

No English title available.

Patent Number: ☐ DE4022794
Publication date: 1992-02-06
Inventor(s): EIGEN MANFRED PROF DR (DE); SIMM WOLFGANG (DE)
Applicant(s): MAX PLANCK GESELLSCHAFT (DE)
Requested Patent: JP6501431T
Application Number: DE19904022794 19900718
Priority Number(s): DE19904022794 19900718
IPC Classification: B29C51/10; B32B3/28
EC Classification: B29C51/10
Equivalents: ☐ EP0539368 (WO9201549), B1, JP2645916B2, ☐ WO9201549

Abstract

Disclosed is a process for the production of a plate with at least one upwards-facing well designed to hold chemical and/or biochemical and/or microbiological substances, the wells being formed in the plate by a moulding tool. The process comprises the following steps: a) a thermoplastic sheet is laid on a moulding block which acts as the moulding tool and includes the negative mould of the wells to be produced, and b) a stream of hot gas at a given first temperature is directed for a given length of time at the thermoplastic sheet, the hot gas stream impacting on at least a zone of the film covering a mould recess, heating it and thus pushing it into the recess so that it fits snugly up against the completely smooth inside surface of the recess.

Data supplied from the esp@cenet database - 12

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

第2645916号

(45)発行日 平成9年(1997)8月25日

(24)登録日 平成9年(1997)5月9日

(51)Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
B 2 9 C 51/10			B 2 9 C 51/10	
G 0 1 N 33/48			G 0 1 N 33/48	E
// B 2 9 L 31:00				

請求項の数4 (全 12 頁)

(21)出願番号	特願平3-502599	(73)特許権者	999999999 マックス ブランク ガゼルシャフト ツル ホルダリング デル ヴィッセン シャフテン エーファウ ドイツ連邦共和国 デー3400 ゲッティ ンゲン プンゼンストラッセ 10
(86) (22)出願日	平成3年(1991)1月29日	(72)発明者	オイゲン、マンフレッド ドイツ連邦共和国 デー3400 ゲッティ ンゲン デヒオベグ 14
(65)公表番号	特表平6-501431	(72)発明者	ジム、ヴォルフガング ドイツ連邦共和国 デー 3405 ロズド ルフ 1 パーンホフストラッセ 3ア ー
(43)公表日	平成6年(1994)2月17日	(74)代理人	弁理士 田辺 徹
(86)国際出願番号	P C T / D E 9 1 / 0 0 0 8 3	審査官	森川 聡
(87)国際公開番号	W O 9 2 / 0 1 5 4 9	(56)参考文献	特開 平1-9719 (J P, A)
(87)国際公開日	平成4年(1992)2月6日		
(31)優先権主張番号	P 4 0 2 2 7 9 4 . 4		
(32)優先日	1990年7月18日		
(33)優先権主張国	ドイツ (D E)		

(54)【発明の名称】 プレートを製造する方法

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】化学的及び／又は生化学的及び／又は微生物学的物質を受容する少なくとも1個の上向き開口くぼみ(11)を有するレート(2)を製造する方法において、くぼみ(11)を成形用金型でプレート(2)に設ける方法であって、

a) 形成すべきくぼみの負型を有し成形用金型として役立つ成形ブロック(37)に熱変形可能な合成樹脂フィルム(36)を載置する工程と、

b) 確定した時間の間合成樹脂フィルム(36)に高温ガス流(47)を加え、その際、高温のガス流(47)が少なくとも凹部(38)を閉蓋する合成樹脂フィルム(36)の範囲に衝突してこれを温め、その連続した平滑な内壁(40)の全面に密着するように凹面(38)に押し込む工程を含み、

2

横断面で見て円形のくぼみ(11)は、容積が200mm³よりも小さく、直径(16)が10mmより小さく、ノズル(45)の吐出し口(48)の直径がくぼみ(11)の直径(16)と概ね同じ大きさであり、確定した距離がくぼみ(11)の直径(16)にほぼ一致することを特徴とする方法。

【請求項2】確定した第1温度より低く、但し室温より高い確定した第2温度に形成ブロック(37)を保つことを特徴とする請求の範囲第1項に記載の方法。

【請求項3】高温ガス流(47)をノズル(45)から吐出し、確定した時間の間該ノズルの吐出し口(48)を合成樹脂フィルム(36)から確定した距離に保つことを特徴とする請求の範囲の第1項又は第2項に記載の方法。

【請求項4】合成樹脂フィルム(36)が厚さ(7)0.5mm未満のポリカーボネートフィルムであり、確定した第1温度が250℃～300℃で、確定した第2温度が90℃～11

0°Cであることを特徴とする請求の範囲第1項、第2項又は第3項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

本発明は、化学的及び／又は生化学的及び／又は微生物学的物質を受容する少なくとも1個の上向き開口くぼみを有するプレートを製造する方法であって、くぼみを成形用金型でプレートに設けるようになった方法に関するものである。

かかるプレートは幾つもの提供者から販売されており、マイクロテストプレート又はマイクロタイタープレートとして知られている。

周知のプレートはポリスチレン又はポリ塩化ビニルからなり、高く立てた縁で全面が取り囲まれた剛性底を有する。厚さが1mmを超える底に上から設けたくぼみは行列状に配置してある。くぼみの容積は普通数百 μ l～数mlである。くぼみと縁により限定された内部空間とを各種汚れの侵入から保護するためプレートの縁を蓋で覆うことが知られている。

プレートは溶液又は物質を一定温度に保つのに利用される。これは貯蔵目的に例えば冷蔵庫内で行われるか又は反応を所定温度で経過させるために行われる。後者の場合プレートは、普通37°Cに設定した孵卵器内に置かれる。

しかし周知のプレートは新しい化学的、生化学的又は微生物学的方法の多くにとって不満である。これらの方法は実験経過の過程で反応溶液をさまざまな温度にする必要があり、この温度は0°Cよりはるかに低い温度から110°Cを超える温度にまで達することがある。反応はしばしば特定の温度分布を周期的に通過しなければならない。該温度分布は幾つかの加熱及び／又は冷却からなる場合がある。反応の収率と効率を使用した溶液中の温度変化速度に本質的に依存する。特に核酸の検査に関連した酵素過程の場合二重鎖を溶かす高温と反応を開始させる低温との間で迅速な変化が必要である。

これらの新規な方法の幾つかは、大量の試料を繰り返し同じプロセス経過に曝す標準方法へと開発された。例えばエイズ試験の場合できるだけ迅速に大量の結果を呈示するため大量の血液試料が同時に調べられる。

周知のプレートは96個までのくぼみ付きで提供されるが、しかしこの数は待ち受けている試料群にとってあまりにも少なすぎる。更に、冷蔵庫内での冷却又は孵卵器内での加熱があまりにも長く持続するので、周知のプレートは温度変化が頻繁で迅速な場合適していない。

プレートを平らな下面を介して温度調節することが知られてはいるが、しかしこの場合試料の温度変化は数分以内にまで持続し、あまりにも長すぎる。

更に、スナップオンキャップ又はねじ蓋を備え円錐形に先細となったプラスチック反応容器が知られている。この反応容器は普通高さが数cmであり、外径は10～18mmである。反応容器をその外面を介し温度調節することに

より、受容した溶液が温度変更される。これは例えば反応容器を水浴に浸漬することにより行われる。しかし温度調節した金属ブロックに反応容器用穴を設けることも知られており、この場合反応容器は穴の壁と接触することにより温度調節される。熱の伝達は穴に水又は油を充填することで向上することができる。

試料の温度変化は、最も早くには、その都度希望する新しい温度に調整した別の水浴又は金属ブロックに反応容器を差し込むことにより達成される。しかしプラスチック反応容器の壁が厚いので溶液はごく緩慢に新しい温度となるにすぎない。

この理由から周知の反応容器は迅速な温度変化を必要とする方法には適していない。更に、処理すべき試料の数が多い場合周知のプラスチック反応容器は所要スペースが大きい。更に不利な点として少なくとも実験準備のときそれ相応に多くの蓋を開閉しなければならず、これにかなりの時間がかかる。

更に、深絞り法の場合剛性合成樹脂製プレートを加熱し、成形用金型と接触させ、負圧又は超過圧で成形用金型の負型又は正型に押圧することが知られている。しかしこの方法は小容積のくぼみを生成するのに適していない。というのもこの場合使用される薄い合成樹脂製フィルムがしばしば裂け、更に小さなくぼみに平滑な表面を生成することができないからである。このことによって温度変化速度が否定的影響を受ける。

そこで本発明は、前記諸欠点を取り除いて冒頭指摘した種類のプレートを製造することができるよう周知の方法を改良することを課題とする。特に、場合によっては小容積の多数の反応溶液を簡単な操作で迅速に温度変更できるようなプレートの製造を可能としなければならない。

この課題が本発明によれば、本方法が

a) 形成すべきくぼみの負型を有し成形用金型として役立つ成形ブロックに熱変形可能な合成樹脂フィルムを載置する工程；

b) 確定した時間の間合成樹脂フィルムに高温ガス流を加える工程；その際高温のガス流が少なくとも凹部を閉蓋する合成樹脂フィルム範囲に衝突してこれを温め、その連続した平滑な内壁の全面に密着するよう凹部に押し込まれる

以上の工程を有することにより解決される。

本発明の根底にある課題がこうして完全に解決される。つまりこの新規な方法で綺麗に成形したくぼみが構成され、該くぼみはフィルムから下に突出し熱交換面の大きい膨出部を有する。くぼみの壁厚は合成樹脂フィルムの最初の厚さより薄い。壁厚が薄く又熱交換面が大きいのでくぼみの壁を通して迅速な熱交換が可能である。くぼみの熱交換面を、くぼみ内に受容した溶液とは別の温度の温度調節物質と接触させると、これは数秒以内にこの新しい温度となる。

更にこの新規な方法では剛性の薄い剛性樹脂フィルムにきわめて多くのくぼみを形成することができる。下面が同時に例えば水浴により温度変更されるプレートに千個までのくぼみを配置することが可能である。それ故、多数の試料の平行処理が可能であることにより、適用する方法、例えば化学的方法のプロセス経済性が著しく高まる。

この新規な方法の好ましい1展開では、確定した第1温度より低く、但し室温より高い確定した第2温度に形成ブロックが保たれる。

この措置の意外な利点として、作製時気泡を生成することなく空気が逃散するので、くぼみの外面はごく平滑になる。この平滑な外壁は適宜に成形した孔でもって例えば金属ブロック内に問題なく係合させることができ、ごく薄い空気層が金属ブロックとくぼみの壁との間に熱伝達を乱すこともない。それ故、この新規な方法により製造したプレートは金属ブロック恒温槽を利用してごく迅速に温度変更することが可能である。更に、金属ブロックは載置したプレートの機械的安定性を良好なものとする。

この方法では、高温ガス流をノズルから吐き出し、確定した時間の間該ノズルの吐出し口を合成樹脂フィルムから確定した距離に保つことにより、別の利点が達成される。

この措置により、封入された空気がくぼみの成形を妨げることもなくごく薄い合成樹脂フィルムでもこの新規な方法で加工することが可能となる。こうして生成したプレートは壁厚がきわめて薄く、熱伝達が一層向上する。

更に、横断面で見て円形のくぼみは容積が $200\mu\text{L}$ より小さく又直径が 10mm より小さく、ノズルの吐出し口の直径がくぼみの直径と概ね同じ大きさであり、そして確定した距離がくぼみの直径にほぼ一致すると有利である。

この措置の利点として、ごく小さな容量でも平滑な外面と再現性あるくぼみが生成される。

更に、合成樹脂フィルムが厚さ 0.5mm 未満のポリカーボネートフィルムであり、確定した第1温度が $250^{\circ}\text{C}\sim 300^{\circ}\text{C}$ 、確定した第2温度が $90^{\circ}\text{C}\sim 110^{\circ}\text{C}$ であると有利である。

この措置により、きわめて良好な熱伝達を保証するようその壁厚を 0.1mm 以下としたくぼみをこの新規な方法で生成することが可能となる。周知のプレート及び周知のプラスチック反応容器と比較して、この新規な方法により製造したプレートはくぼみ数が多い場合でも所要スペースが著しく少なくなる。更に、安価な使い捨て商品として構想することができるよう新しいプレートを作製するのに必要となる材料がかなり少ない。

この新規な方法により製造したプレートではくぼみの熱貫流率が $5 \times 10^{-4} \text{ W / (k mm}^2\text{)}$ より大きく、この熱貫流率には $W = (A \cdot \lambda) / (V \cdot x)$ の式が妥当し、こ

こにAは熱交換面の大きさ、 λ は壁を形成する材料の熱伝導率、Vはくぼみの容積、xは熱交換面と内面との間の距離として測定したくぼみの壁厚、そしてWは熱貫流率である。

かかる熱貫流率の場合熱は壁を通してくぼみ内に又はくぼみから外に迅速に輸送することができる。

その他の利点は明細書及び添付図面から明らかとなる。

前記特徴及び以下なお説明する特徴はその都度記載した組合せにおいてだけでなく、本発明の枠を逸脱することなく別の組合せや単独でも勿論適用することができる。

本発明の1実施例を図面に示し、以下の明細書で詳しく説明する。

第1図は上向きに開口したくぼみを有する本発明によるプレートの一部を示す斜視図である。

第2図は第1図のプレートを第1図のII-II線に沿って示す断面図である。

第3図は第1図のプレートを製造する方法の概要図である。

第4図はカバーフィルムを有する第1図のプレートのカバーの一部を示す斜視図である。

第5図はくぼみの周囲に延設されカバーフィルムをプレートと接合する環状接合継目を有する第4図の閉蓋したプレートを第4図の矢印V方向に見た図である。

第6図は第5図の接合継目を生成する溶接ラムの部分断面図である。

第7図は第6図の溶接ラムを第6図の矢印VIIに沿って上から見た部分図である。

第8図は第5図の接合継目を第5図のVIII-VIII線に沿って示す側面断面図である。

第9図は第6図に示す溶接ラムを幾つか使用して第4図の閉蓋したプレートを溶接する装置の斜視図である。

第10図は第5図の溶接したプレートを加熱ブロックと一緒に使用する状態の一部を示す斜視図である。

第1図に矩形軟質プレート2とその長手縁3の一つと側縁4の一つが一部示してある。例えば剛性合成樹脂フィルムから作製したプレート2は平らな上面5とこれに平行な下面6とを有する。上面5と下面6との間で測定したその厚さは符号7で示唆してある。第1図に認めることができるようにこの厚さ7はプレート2の横寸法に比べ小さい。

プレート2に通孔9が設けてあり、上向きに開口したくぼみ11が形成してある。くぼみ11は列12と行13とに配置してあり、列12は長手縁3と平行、そして行13は側縁4と平行である。列12又は行13は相互にそれぞれ符号14,15に示唆した列間隔又は行間隔を有する。図示実施例において横断面で見て円形のくぼみ11は第2図に一層認めることのできる内径16を有する。列間隔14と行間隔15は同じ大きさであり、くぼみ11の内径16は列間隔14又は

行間隔15より当然小さい。

くぼみ11は丸みを付けた開口縁17で取り囲まれたその開口18がプレート2の上面5の平面にある。それはその内部空間19を限定する壁体20を有し、該壁体は一種のカップ形膨出部21として形成しており、且つ相互に同一のいづれのくぼみ11でもプレート2の下面6より下にある。

以下の明細書において「上向き」とはくぼみ11の内部空間19から開口18を通過する方法を意味し、従って「下向き」とはその逆方向を意味する。

第2図に一層認めることができるように膨出部21は中空円筒形上部22とそれを一体な半球形下部23とを有し、下部の湾曲底壁24がくぼみ11の下を閉鎖している。上面5は丸みを付けた周縁17を形成しつつ直径内面25としてくぼみ11の内部空間19に移行しており、下面6は膨出部21の周囲に条溝27を形成しつつ膨出部21の外面28として実質的に湾曲内面25と平行に延びている。個々のくぼみ11間に延設した腹部29が個々の開口18を相互に分離している。

第2図に更に認めることができるように底壁24は符号31に示唆した厚さを有し、この厚さは内面25と外面28との間で測定したものである。中空円筒形上部22に適宜に測定した厚さが符号32に示唆しており、この厚さは厚さ31にほぼ一致する。各くぼみ11の容積33は符号34に示唆したその深さと内径16とによって実質的に決まっている。深さ34は底壁24と符号35に破線で示唆した想定最大充填高さとの間で測定したものである。充填高さ35はほぼ湾曲開口縁17が垂直な内面25に移行している高さにある。界面張力とそれに伴う湾曲との故に、特に容積33が小さい場合、受容すべき物質の充填容積は最大容積33より小さくなる。

以上述べたプレート2のくぼみ11は化学的及び／又は生化学的及び／又は微生物学的物質を受容するのに役立ち、これらの物質はくぼみ11内で貯蔵され又は反応させられる。くぼみ11の容積33とプレート2当たりのくぼみ数はくぼみ11により受容すべき物質に依存する。容積33を介し、内径16及び深さ34の他、列間隔14及び行間隔15も殆ど確定してある。プレート2の厚さ7は、腹部29の範囲では、くぼみ11が密に隣接しているにも拘らずプレート2が十分な強度を有し又くぼみ11に充填して輸送する場合にもプレートが折れ曲がることのないよう選定してある。くぼみ11の壁体20の厚さ31,32は、機械的視点の下、充填したくぼみ11が受容した物質の重さで裂け目を生じたり引き剥がされたりすることのないよう選定してある。

プレート2を作製する材料と壁体20の厚さ31又は32は純機械的観点の他、物理的観点からも選定してある。厚さ31,32は第2図に認めることができるように一厚さ7よりかなり小さく、くぼみ11の内部空間19へ又は内部空間19から外へと良好な熱輸送を可能とする。これによ

り、外面28全体を熱交換面28'としてその都度希望する温度の温度調節物質と接触させることで、くぼみ内の物質をごく迅速に冷却し又は温度変化させることが可能となる。

選択した実施例ではプレート2がポリカーボネートから作製しており、熱伝導率はケルビン・メートル当たり $\lambda = 0.21 \text{ W}$ である。厚さ7は約0.27mmであり、厚さ31には $x = 0.04 \text{ mm}$ が妥当する。列12間の間隔14又は行13間の間隔15は約10mm、くぼみ11の容積33は $V = 85 \mu \text{ l}$ である。熱交換面28'の大きさは外面28に一致し、 $A = 75 \text{ mm}^2$ である。式

$$W = A \cdot \lambda / V \cdot x$$

により、これらの数値でもって熱貫流率は約 $4.5 \times 10^{-3} \text{ W} / (\text{k mm}^2)$ となる。

かかる熱貫流率の場合、壁体20を通した熱交換は特定の時間係数が物質内への熱伝導そのものとなるほど迅速に行われることが判明した。

従ってこの新規なプレート2は例えば小さな空間で多数の反応を別々にくぼみ11内で行うことを可能とし、その際これらの反応はくぼみの壁体20を通して熱的にごく良好に制御することができる。

更にプレート2の材料はくぼみ11の壁体20を通して例えば吸収測定又は蛍光測定等の光学分析法が可能となるよう選定してある。この目的のため材料は該当する光波長域内で透明でなければならない。即ちこの波長域内ではさしたる吸収も蛍光放出も起こしてはならない。

第3図を基に次に第1図のプレート2の製造方法を説明する。出発材料は厚さ7の例えばポリカーボネートからなる薄いフィルム36である。このフィルム36が温度調節した成形ブロック37に載せられ、該ブロック内に上向きに開口した袋穴38が設けられてあり、これはくぼみ11と同様に列12と行13とに配置してある。袋穴38はその内部39を取り囲む壁面40を有し、該壁面は平滑でそれ自身閉じている。袋穴38の寸法は生成すべき膨出部21の外寸に一致するよう選定してあり、選択した実施例の場合袋穴は直径約6mm、深さ約4mmである。

金属、例えばアルミニウムから作製した成形ブロック37内に符号43に概略示唆したヒータが設けてあり、これにより成形ブロック37は均一に 100°C に加熱される。袋穴38の方向で成形ブロック37より上に配置された空気ノズル45は矢印46の方向に移動可能である。この方向46は行13又は列12と平行であり、空気ノズル45は個々の各袋穴38上を中心に位置決め可能である。方向46は更に成形ブロック37に載置したフィルム36の上面5と平行に整列しており、空気ノズルと上面5との間の間隔は一定したままである。

空気ノズル45が約 280°C の高温熱風噴流47を放出し、該噴射は約2～5m/秒の速度でその吐出し口48から成形ブロック37にほぼ垂直に下方に吐出される。吐出し口48は直径が約5mmであり、フィルム36の上面5の4mm上にあ

る。空気ノズル45は順次個々の袋穴38上の中心に位置決めされ、その場所に約3〜5秒留まる。上面5に衝突した熱噴流47によりフィルム36はそれが塑性変形可能となるまで温められる。

熱風噴流47は次にフィルム36の最初袋穴38より上にあった範囲を各袋穴の内部39に吹き込み、この範囲が徐々に伸長し、フィルム36の最初の厚さ7がこの範囲では益々減少し、最後には発生したくぼみ11の壁体20が第2図に示唆した厚さ31又は32となる。

第3図では右側のくぼみ11/1が既に仕上げてあり、空気ノズル45は袋穴38/2の上にあり、このなかでくぼみ11/2がまさに形成される。くぼみ11/2の底24は既に一部袋穴38/2の内部39/2に進入しており、引き続き袋穴38/2の平滑な内壁に全面が当接する。第3図に認めることができるようにくぼみ11/1,11/2間に腹部29がフィルム36の最初の厚さ7で残る。くぼみ11の離型時、封入空気は気泡を生成することなく逃散する。

1 個の空気ノズル45に代え複数個の平行な空気ノズル45を使用することも勿論可能であり、それらの吐出し口48は行13又は列12の格子寸法に配置される。こうして空気ノズル45の数に応じて1列12又は1行13のくぼみ11を全て同時に製造することができる。

既に先に述べたようにフィルム36は厚さ0.27mmのポリカーボネートからなる。くぼみ11の離型前、フィルム36は乳濁している。しかしフィルム36は熱風噴流47の温度280°C、成形ブロック37の温度100°Cのとき、離型したくぼみ11の壁体20の範囲が、上記光学分析法に必要なように透明となることが判明した。くぼみ11の本来の離型には成形ブロック37を100°Cに温度調節する必要がないが、この温度調節により更にくぼみ11の外表面28は各袋穴38の壁面40に密着することになる。これにより、各くぼみ11の外表面28をやはり平滑で均一な表面とすることが達成され、このことはくぼみ11内に受容した物質の温度変化にとって大きな利点である。つまり膨出部21がほぼ同一の輪郭を有し、その熱交換面28'は熱伝達を乱す空気層を生じることなく、袋穴38に合わせて形成した相手面と直接接合することができる。この点はなお後に第10図を基に説明する。

特にくぼみ11の容積33が小さい場合、くぼみ11は外気から密閉しなければならない。この目的のため第4図に示す蓋板が設けてあり、これは薄いカバーフィルム49からなる。カバーフィルム49に通路50が設けてあり、これはプレート2の通路9と同じ格子寸法に配置してある。カバーフィルム49は平らな上面51とこれに平行な下面52とを有し、該下面でもってカバーフィルムはプレート2の閉蓋時その上面5に当接する。カバーフィルム49は上面51と下面52との間で測定した厚さ53がカバーフィルム49の横寸法に比べ小さい。カバーフィルム49は例えば厚さ0.1mmのポリカーボネートから作製してある。

プレート2に載置するとカバーフィルム49は通路50が

通路9と一直線に並ぶよう整列させられる。こうしてカバーフィルム49とプレート2はなお詳しく説明する仕方と同時に互いに接合して支持装置に固着することができる。

通路50又は通路9に代え下又は上に突出した円筒ピンを設けておくことも勿論可能であり、カバーフィルム49をプレート2に載置するとこのピンが通路9又は通路50内に係合し、こうしてカバーフィルム49を着脱可能にプレート2と係合する。

10 カバーフィルム49用に主に使用される材料は既に触れたように厚さ0.1mmのポリカーボネートである。このフィルムは適用する光学分析法に該当する波長域で透明であり、僅かな自己蛍光を有するにすぎない。光学分析法はこうして上からカバーフィルム49を通して適用することができ、特に、透過法でカバーフィルム49とくぼみの底壁24とを通してくぼみ11内に受容された物質の光学密度を測定することが可能である。

くぼみ11の容積33は好ましくは小さく、30〜100 μm^3 であり、この場合くぼみ11内に受容された溶液の容積が凝縮効果及び/又は蒸散効果で変化することがある。特に、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、つまり個々の核酸鎖を増殖させるためしばしば適用される方法のとき現れるように高温と低温との間で溶液の頻繁な温度変化が必要な場合にもこのことは妥当する。

20 カバーフィルム49の密封効果を高めるためカバーフィルム49は各くぼみ11の範囲で、くぼみの開口縁17を取り囲む閉じた環状接合継目55によりプレート2と接合される。第5図に認めることができるように各接合継目55がカバーフィルム49の円形範囲57を限定し、この範囲が付属のくぼみ11の開口18をそれぞれ閉鎖する。こうして各くぼみ11はいわば円形範囲57の形の独自の蓋で閉鎖され、該蓋は接合継目55によりくぼみ11を取り囲む腹部29と接合してあり、各くぼみ11は外気と残りのくぼみ11とに対し気密に閉鎖される。

30 個々の接合継目55を設けるのに役立つのは例えばその正面58を異形化した溶接ラム59であり、これが第6図に一部図示してある。溶接ラム59は完全な円筒形の基体60を有し、これが上端61に基体60と一体な環状肩部62を担持している。環状肩部62が円形凹部63を限定し、該凹部は基体60と同軸、従ってその長手軸64と同軸であり、基体60から離れる方を向いた花冠状正面58を担持している。

40 凹部63を花冠状に取り囲んだ正面58に異形化として角錐体65が整列させて設けてあり、これは正方形の底面66が環状肩部62と一体に構成してある。角錐体65はその頂点67が溶接ラム59の長手軸64と平行な方向に、基体60から離れる方を向いている。

50 第7図に正面58が第6図の矢印VII方向に見た平面図で一部示してある。ここに認めることができるように角錐体65は列68,69状に配置してあり、列は相互に角錐体

底面66の半幅だけずれている。互いに平行で相互にずれていない2列68/1, 68/2間に延設した列69/1が列68/1, 68/2に対し角錐体底面66の半幅だけずれるように配置してある。列69/1から離れる側で列68/2に直接続いた列69/2は列69/1と平行に延び且つこれに対し横方向で整列している。

図6に立ち返って認めることができるように溶接ラム59は符号71に概略示唆したヒータを備えており、好ましくはV2A鋼から作製した溶接ラム59が該ヒータにより約280°Cに加熱される。接合継目55を設けるため、加熱した溶接ラム59が上から、プレート2に載置したカバーフィルム49の上面51に置かれ、その異形化環状正面58はカバーフィルム49の下にある溶接すべきくぼみ11の開口縁17を中心で取り囲む。円形凹部63は角錐体の頂点67が開口縁17の外側でカバーフィルム49の腹部29上にある部分に当接するような大きさの直径である。

角錐体65の正方形底面66は0.5×0.5mmであり、四辺形角錐体65の頂点67は角錐体底面66から垂直に0.25mm上にあり、即ち角錐体の相対向した2辺は対頂角が90°である。半径方向で3個以下の角錐体65が相前後して環状正面58に配置してあり、溶接ラム59が全体として有する外径は凹部63の直径よりも角錐体65の少なくとも6つの底面長だけ大きい。

厚さ53が約0.1mmに相当するカバーフィルム49を厚さ7が約0.27mmに相当するプレート2に溶接するには以下の操作が好ましいことが判明した。

カバーフィルム49が上からプレート2に載せてくぼみ11を閉蓋し、通孔50を通孔9と一直線に並べる。280°Cに加熱した溶接ラム59は正面58を前して上からカバーフィルム49の上面51に載せ、カバーフィルム49の下にある溶接すべきくぼみ11上の中心に置く。正面58上の角錐体65はいまやその頂点67が、場合によってはカバーフィルム49の材料中に多少食い込んで表面51に載置され、該表面を加熱する。カバーフィルム49はこうして約13秒間正面58のハニカム状断面によって予熱される。次に溶接ラム59は約0.1~0.2mm下方にカバーフィルム49に押圧され、各角錐体67がカバーフィルム49に食い込み、後者がやはりプレート2の腹部29に食い込む。この位置に溶接ラム59は2秒間留まり、次にカバーフィルム49から完全に持ち上げられる。

こうして発生した接合継目55は一種の溶接継目であり、第8図に第5図のVIII-VIII線に沿った横断面図で示してある。冷えた接合継目55は溶接ラム59と同様に適宜な異形化を有する。角錐体65はカバーフィルム49の予熱した上面51に逆立ちした角錐体凹部73に押し込まれ、該凹部は形状が角錐体65に一致している。カバーフィルム49は更に凹部73の範囲でその下面52が腹部29の、カバーフィルム49を通して間接的に予熱した上面51に食い込み、そこに凹部73に一致した凹部74を形成する。こうしてカバーフィルム49の下面52とプレート2の上面5との

間に形成された接触面75は横断面で見てジグザグ状に延びている。このジグザグ状の故に接触面75はカバーフィルム49の下面52とプレート2の上面5との間の溶接前に接合継目55の所定範囲に存在した載置面よりも大きい。

角錐体65の加熱作用で載置面が大きくなっただけでなく、更に接触面75に沿ってカバーフィルム49と腹部29が互いに物質嵌合式に溶接されている。この接合継目55は高温と低温との間で頻繁に変化する場合でも下面6又は外面28で個々のくぼみ11が液密にだけでなく気密にも十分閉鎖されるようにする。このことはくぼみの内部に超過圧力が生じる場合にもなお妥当する。なぜなら例えば受容された溶液は溶液の上にある気体容積が膨張しようとするような温度に温められ又は加熱されたからである。接合継目55は、閉鎖したプレート2が実験室で日常的に曝されるような通常の機械荷重や、温度変化に伴う僅かな形状変化や応力にも問題なく耐える。

前記溶接の間カバーフィルム49は開口18を閉蓋する円形部分57がドーム状に高く湾曲し、閉鎖して上述の如く溶接したプレート2は各くぼみ11の上にカバーフィルム49のレンズ状湾曲部76を有する。

しかしこの湾曲部76はくぼみ11を気密に溶接した場合にのみ形成されるので、同時にそれは、形成された接合継目55が当該くぼみ11をくぼみ内部の超過圧力にも耐えるよう気密に閉鎖したことの視覚的表示でもある。溶接後にカバーフィルム49が湾曲部76を有していないと、溶接操作は例えば溶接ラム59の滞留時間や温度に関し、又は角錐体65が上面51に食い込む深さに関しても、不備があったことになる。

溶接ラム59の温度、角錐体65の寸法、そして角錐体65がカバーフィルム49の上面51に食い込む深さは上記実施例において厚さ0.1mmのポリカーボネートからなるカバーフィルムと厚さ0.27mmのポリカーボネートからなるプレート2とについて例示的に挙げたものにすぎない。それより厚いポリカーボネートフィルムの場合、カバーフィルムの厚さにはほぼ一致する角錐体の食い込み深さをこの新しい厚さに適合しなければならない。

溶接操作の成果にとって、溶接ラム49の滞留時間を正しく維持する他、まず上面51で、次に上面に食い込んだ状態で、角錐体65がカバーフィルム59の材料に食い込む深さも本質的である。上述の溶接操作は手で実施できるのではあるが、正しく設けた接合継目55の収率は第9図に示した溶接装置78を使用することで著しく向上する。

溶接装置78は平らな矩形底板79と底板79の上方に配置した平らな頭板80とを有し、頭板は底板79とほぼ同じ横寸法である。頭板80は4本の案内棒81により底板79に固着してある。4本の案内棒81はそれぞれ4隅の一つの範囲で上から底板79にねじ込んであり、そのうち第9図では右前の案内棒81/4が見易くする理由から切欠いてある。

底板79と頭板80との間に高さ調整可能な支持板82が設

けてあり、その外隅にボールブッシュ83を嵌め込み、そこに案内棒81が挿通してある。支持板82の高さ調整用駆動部として電気駆動式駆動モータ84が支持板82から離してそのフランジ85で上から頭板80に固着してある。モータ84は符号86に示唆したモータ軸を有し、該軸は符号87に示唆した循環式ボールねじ伝動装置と結合してある。循環式ボールねじ伝動装置87は他端が支持板82と結合してあり、モータ軸86の回転運動を案内棒81に沿った支持板82の調整運動に変換するのに役立つ。

循環式ボールねじ伝動装置87から離して支持板82の下方の中心に加熱ブロック89が設けてあり、これは4本の間座ボルト90を介し下から支持板82に固着してある。銅から作製した加熱ブロック89は第9図に3個だけ示唆した溶接ラム59用に第6図の符号71に示唆したヒータの機能を果す。溶接ラム59/1, 59/2, 59/3は間座ボルト90から離して下から加熱ブロック89に差し込まれ、その正面58は加熱ブロック89から離れる方を向いて下向きである。

加熱ブロック89に第9図で右から左にほぼ完全に穿設した袋穴91が設けてあり、これに電気加熱式ヒータカートリッジが差し込んであるが、これは見易くする理由から図示省略してある。加熱ブロック89の温度は好適な仕方図示省略した温度センサで測定され、やはり図示省略した制御回路に伝送され、該回路はそれ自身ヒータカートリッジを駆動する。こうしてそれ自体周知の仕方で閉ループ制御回路が形成され、該回路を介し加熱ブロック89の温度は一定値に、例えば280°Cに保たれる。間座ブロック90を介し加熱ブロック89が支持板82を温め、このことでボールブッシュ83が案内棒81上で動かなくなることがある。この理由から支持板82に冷媒穴92が設けてあり、この穴を介し支持板82が恒温槽冷却回路に接続してある。こうして支持板82の温度は加熱ブロック89の温度に拘りなく外部恒温槽を介し制御可能であり、案内棒81に沿って支持板82の易動性調整が保証してある。

支持板82を介し高さ調整可能な加熱ブロック89の下、ほぼ中心で底板79に上向き受容ブロック93が設けてある。受容ブロック93はそれに穿設した冷媒穴94を有し、この穴は支持板82の冷媒穴92と同様に外部恒温槽回路に接続してあり、該回路は受容ブロック93を設定可能な一定温度に保つ。

受容ブロック93は上向きに開口したカップ95を有し、該カップはプレート2から下に突出した膨出部21を受容するよう指定してある。それ故カップ95は第3図に認めることのできる成形ブロック37の袋穴38と同じ寸法であり、くぼみ11と同様に列12と行13とに配置してある。

上から受容ブロック93に載置されたプレート2はやはりカバーフィルム49で閉蓋してある。カバーフィルム49には、受容ブロック93を上から全面把持する有孔マスク96が被せてあり、該マスクはカバーフィルム49をプレート2に、そしてこれをやはりそのくぼみ11と一緒に受容ブロック93内に押圧する。有孔マスク96は溶接ラム59と

整列させて連続孔97が設けてあり、この孔はやはり各くぼみ11上の中心で孔97が整列するよう列12と行13とに配置してある。見易くする理由から有孔マスク96、カバーフィルム49及びプレート2は受容ブロック93に対しずらして切欠き図示してある。

勿論プレート2の各くぼみ11ごとに孔97と溶接ラム59が設けてある。

受容ブロック93の両側に、有孔マスク96を底板79に固着するため2個の同一の上向き台座98が配置してあり、そのうち右側の台座98/2は切欠き図示してある。台座98/1は上向き取付穴99を有し、有孔マスク96を下方に受容ブロック93に押圧するため例えばばねクランプ又は門として設計しておくことのできる取付クランプが前記取付穴に固着される。

見易くする理由から取付クランプが第9図には図示省略してある。

以上説明した溶接装置78は以下の如く作動する：

支持板82は第9図に示す上昇した出発位置にある。有孔マスク96を受容ブロック93から取り去ったのち、溶接すべきプレート2はくぼみ11の膨出部21がカップ95に当接するよう上から受容ブロック93に載せられる。開口18を上に向けたくぼみ11は希望する物質を既に充填してカバーフィルム49で閉覆してあり、又はいまや適宜に充填してカバーフィルム49で閉蓋され、該フィルムはその通孔50がプレート2の通孔9と一列に並ぶよう整列させてある。こうして閉蓋したプレート2を介し有孔マスク96を膨出させ、その連続孔97がくぼみ11上の中心に置かれる。台座98に設けた取付クランプを利用して有孔マスク96はしっかり下方に受容ブロック93に押圧される。

加熱ブロック89は袋穴91に差し込んだヒータカートリッジを介し280°Cに加熱してある。加熱ブロック89と熱伝導結合した溶接ラム59もこの温度を有する。循環式ボールねじ伝動装置87を介し駆動モータ84のモータ軸86の回転運動は支持板82の、ボールブッシュ83及び案内棒81を介し案内される下向きの運動に変換される。支持板82が下降し、それに伴い加熱ブロック89が下降すると溶接ラム59/1又は59/2は上から有孔マスク96の付属の孔97/1又は97/2内に移動する。循環式ボールねじ伝動装置87の変速比とモータ軸86の回転数は、既に先に説明したように支持板82の下降運動の最後に溶接ラム59の正面58又は角錐体65の頂点67が丁度カバーフィルム49の上面51に当接するように設計してある。

この位置で溶接ラム59がカバーフィルム49とプレート2を、設けるべき接合継目55の範囲で予熱し、溶接装置78は約13秒間この位置に留まる。この予熱時間後、支持板82は循環式ボールねじ伝動装置87を介しモータ84により徐々に0.1mmずつ更に下方に受容ブロック93へと接近し、溶接ラム59の正面58に設けた角錐体65がカバーフィルム49に食い込み、該フィルムが支持板2の腹部29に食い込む。更に2秒後、モータ84はそのモータ軸86がそれ

までの回転方向とは逆方向に回転し、従って循環式ボールねじ伝動装置87を介し支持板82を、従って加熱ブロック89と溶接ラム59を再び第9図に示す出発位置に上昇させるよう駆動される。

取付クランプの解除後、有孔マスク96を取り外すことができ、第5図に示す溶接したプレート2が受容ブロック93から取り外される。いまや次のプレート2を受容ブロック93に載せ、溶接操作を最初から始める。

多くの実験にとって、くぼみ11内に受容した物質を低温に保ち、上記溶接操作の間それが加熱されるのを防止する必要がある。この目的のため受容ブロック93は、従ってそのカップ95は冷媒穴94を介し各物質が必要とする例えば10°Cの温度に温度調節される。くぼみ11は熱交換面28'が各カップ95の内壁に密着し、くぼみ11の壁体20の厚さ31が小さいのでくぼみ11にある物質は受容ブロック93そのものと同じ温度に保たれる。溶接時場合によって物質に供給された熱は良好な熱伝達の故に壁体20を通して瞬時に受容ブロック93内に排出される。

こうしてこの新規なプレート2のくぼみ11内に新規な溶接装置78を利用して温度変動にきわめて敏感に反応する物質も封入溶接することができる。これにより、温度に敏感な物質又は溶接又は高伝染性物質を多数最少の空間で気密に放送することが従来知られていない程度に可能である。これらの物質とは例えば正化学的及び/又は微生物学的試験法のための調製済み反応溶液であり、この新規なプレート2に既に配分し溶接した形で利用者に提供される。利用者が被検物質は例えば、くぼみ11の開口18を閉蓋する湾曲部76に上から細いカニューレを突き刺すことにより、くぼみ11内にある試験溶液に入れることができる。被検物質は次にくぼみ11内にある試験溶液に注入される。

このカニューレは例えば実験室で日常的に使用される注射器であり、これを引き戻したのち湾曲部76に毛細管状通路が残る。この通路を介し周囲の大気との湿気交換は可能でなく、気密に溶接したくぼみ11内に受容された物質又は溶液の容積が凝縮効果又は蒸散効果で変化することはない。

しかしこの新規なプレート2のくぼみ11は普通その場で、例えば化学実験室で充填し、新規な溶接装置を用いてカバーフィルム49で気密に閉鎖される。行13及び列12の確定した格子寸法の故に、周知の多重ピペットを使って複数個のくぼみ11に同時に充填することが可能である。

第10図にプレート2と気密に閉鎖したくぼみ11が示されており、くぼみ内には例えばその温度を介しその反応経過を調節可能な溶液がある。溶液はその場でくぼみ11に注入したものか又は既に溶接済みで提供されたプレート2内にあり、追加的に利用者が被検物質—例えば被検DNA分子—を接種したものである。

こうして準備したプレート2が上からサーモブロック

101に挿入され、該ブロックが上向きに開口した袋穴102を有し、該袋穴がカップ形膨出部21を受容するのに役立つ。この袋穴102はプレート2を製造するのに使用した成形ブロック37の袋穴38と同じ形状である。膨出部21を袋穴102に挿入したのち、袋穴はその内壁103が膨出部21の熱伝達面28'に直接当接する。それ故、外面28と相手面103'として働く内壁103との間にはサーモブロック101とくぼみ11の内部19との間の熱伝達を妨げる空気層が存在しない。

10 サーモブロックに更に上向きに開口したねじ穴104が設けられ、この穴はサーモブロック101にプレート2を挿入するとカバーフィルム49の通孔50又はプレート2の通孔9と一直線に並ぶ。通孔50,9を通して上からねじ105がねじ穴104にねじ込まれ、こうしてカバーフィルム49で閉鎖したプレート2がサーモブロック101としっかり結合される。サーモブロック101はその上面106がプレート2の下面6に密着し、膨出部21はその熱交換面28'が袋穴102の内壁103にしっかり押圧される。

20 内壁103に直接熱接触した外面28の平滑な表面の故に、そして上述の大きな熱貫流効率の故に、くぼみ11内にある溶液は数秒以内にサーモブロック101の温度となる。溶液を例えば長期間低温で貯蔵する場合、良好な熱伝導性金属から作製したサーモブロック101はそれに接続した恒温槽を介し例えば+4°Cに温度調節される。

30 溶液中で半納を開始する場合サーモブロック101は好適な仕方で溶液の反応温度に加熱され、溶液は良好な熱伝達の故にサーモブロック101の温度変化に殆ど直接的に追従する。サーモブロック101そのものの温度変化は、それ自体周知の仕方で、サーモブロック101を各種温度の水浴に浸漬し、予め温度調節した別の金属ブロックと熱伝導接触させ、又は温度勾配を生成する金属レールに沿って移動させることで引き起こすことができる。

特に温度勾配を有する金属レールの故に、サーモブロック101の温度、従ってくぼみ11内の溶液温度の周期的変化が可能である。くぼみ11内でポリメラーゼ連鎖反応を実施するにはサーモブロック101は例えばまずまず60秒間37°Cに、次に120秒間72°Cに、その後60秒間94°Cに、そして再び60秒間37°C等々に保たれる。超過圧力のときにも個々のくぼみが気密に閉鎖してあるので、高温時にも水蒸気飽和空気がくぼみの内部から逃げることはない。受容された液体の上にある空気容積の水蒸気含量は空気が逃げるできないので液体により制御され、蒸散過程が生じることがなく、溶液中に当初設定された濃度は多くの温度周期の過程で変化することがない。このことで実験時の収率が良好となる。

更に、ポリメラーゼ連鎖反応の経過によって決定的なのは溶液を個々の温度にするのに必要な時間である。周知のプラスチック反応容器内での典型的反応経過は10時間以上持続し、通常徹夜で行われるのに対し、新規なプレート2を使用すると反応は4時間未満で終了する。そ

17

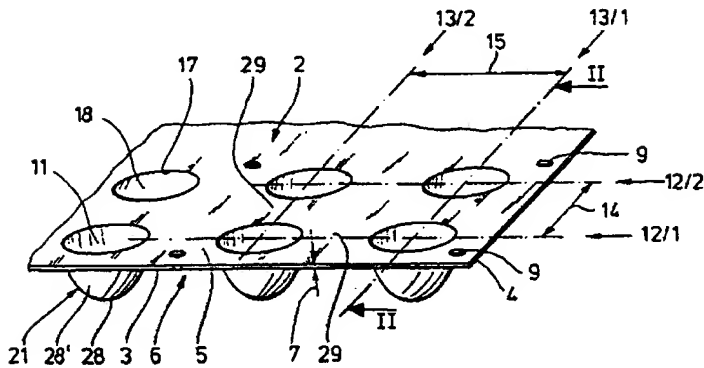
れ故、かかる実験はいまや1日以内に準備し実施し分析することができる。

実験経過の終了後、溶液は例えば分離ゲルを介し分析するため少なくとも部分的に再利用される。この目的のため湾曲部76に第10図の符号107に示唆した注射器を突き刺して溶液の一部が取り出される。注射器107を引き戻したのちくぼみ11内に残った溶液は例えば上述の如く貯蔵することができる。取り出すとき湾曲部76に生じた孔はさしたる湿気交換を生じないのではあるが、再び例えば接着フィルムで追加的に閉鎖することができる。 *10

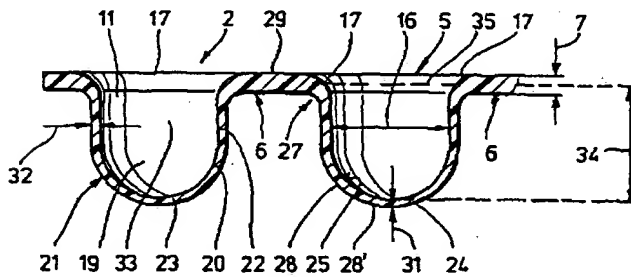
18

* 最後に単に完全を期す意味で触れておこなう、この新規なプレート2の横寸法と列間隔14又は行間隔15は実質的にくぼみ11のその都度希望する充填容積33に依存する。その都度使用するサーモブロック101、受容ブロック93及び成形ブロック37はこれらの間隔に適合してある。しかしいずれにしてもフィルム36の厚さ7は仕上げたプレート2のくぼみ11が0.04mm程度の厚さ31の底壁24を有し、熱貫流立が所要の高い値となるよう選定してある。

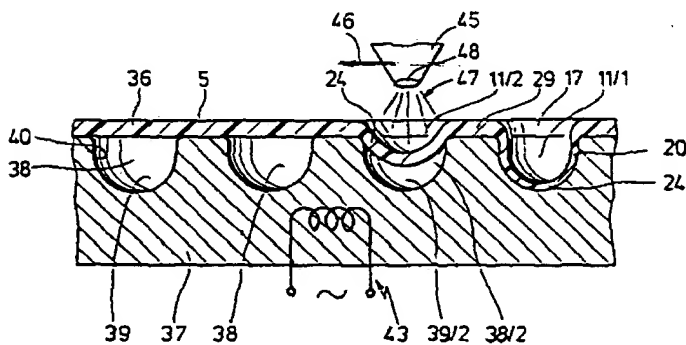
【第1図】



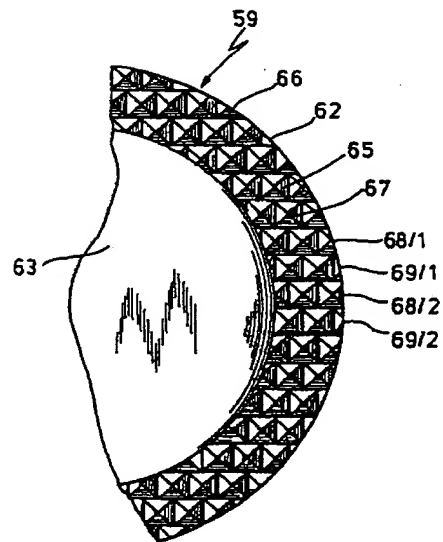
【第2図】



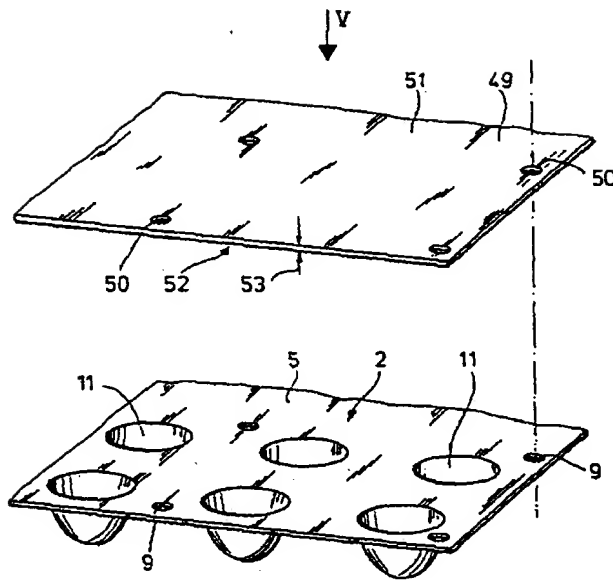
【第3図】



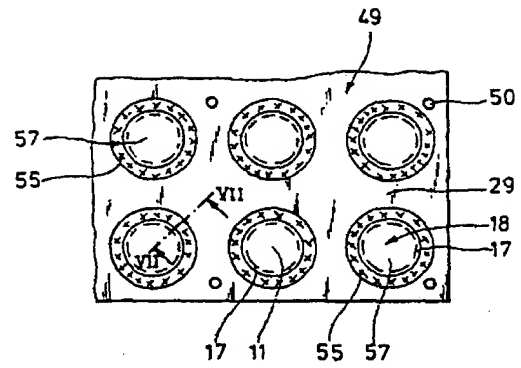
【第7図】



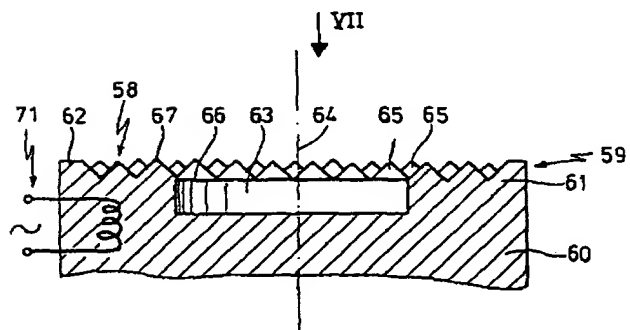
【第4図】



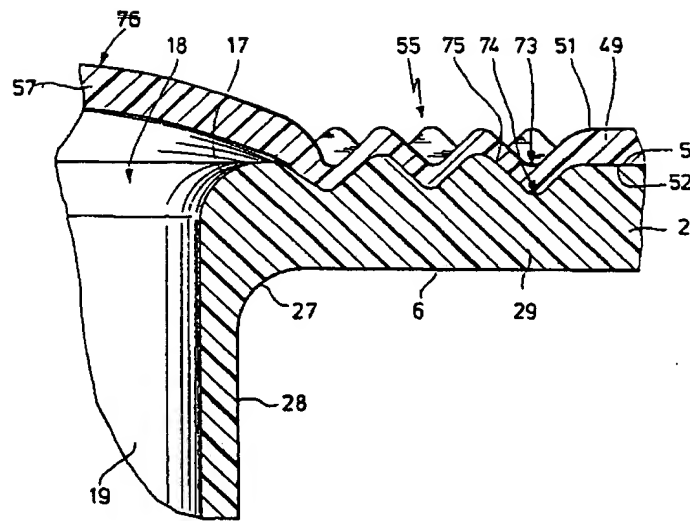
【第5図】



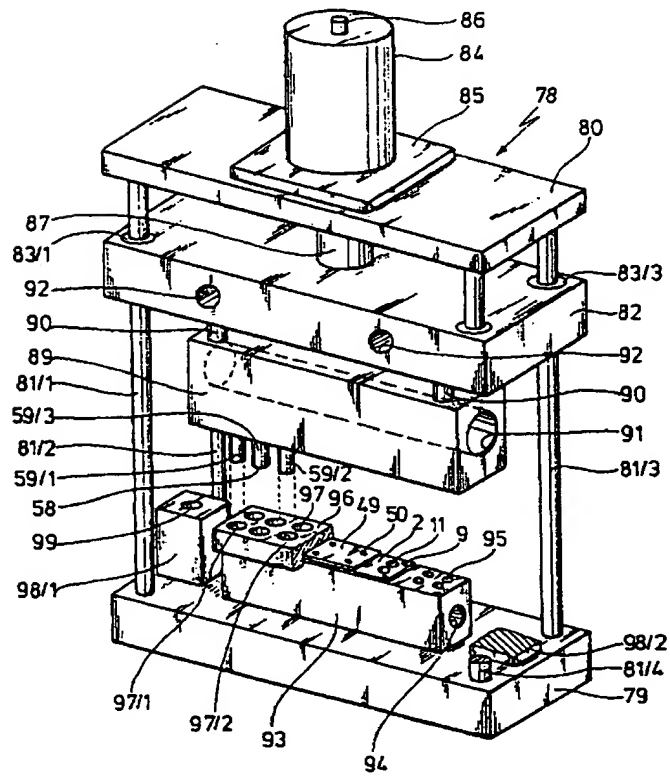
【第6図】



【第8図】



【第9図】



【第10図】

